

Bst III DNA Polymerase

使用前请仔细阅读说明书

目录号: LP311

版本号: Version 1.0

保存: -20°C保存两年。

产品描述

本产品包含 *Bst* III DNA 聚合酶、5×LAMP Reaction Mix、荧光染料 TS LAMP Green，只需自备模板、引物。其中 *Bst* III 为 *Bst* II DNA 聚合酶的升级版，可以进行以 DNA 或 RNA 为模板的 LAMP 反应，用于 RT-LAMP 反应时不建议再加入反转录酶。

5×LAMP Reaction Mix 为优化的预混反应液，已包含反应所需的 $MgSO_4$ 、dNTPs 等组分，无需另外加入。

TS LAMP Green 为荧光定量扩增的 DNA 结合染料，和 SYBR Green I 光谱范围相似，与各知名品牌 qPCR 仪兼容，使用 TS LAMP Green 替代 SYBR Green I，毋需改变任何您目前使用的操作步骤和仪器设备。

本产品更适用于进行以 RNA 为模板的 RT-LAMP 反应，具有极强的反转录活性和扩增能力，可在 30 分钟内检测低至 1 拷贝的 RNA 分子，且适用于荧光染料法、荧光探针法。对于 DNA 模板的 LAMP 扩增推荐使用 *Bst* II DNA Polymerase (LP301)。

特点

- 等温扩增 (LAMP/RT-LAMP) 能力
- 快速聚合
- 强链置换能力

适用范围

- RNA/DNA 等温扩增
- 富含 GC 区域的 DNA 测序
- 可用于要求嗜温链置换的实验。

产品组成信息

产品组成	LP311-01 (100 rxns)	LP311-02 (200 rxns)
<i>Bst</i> III DNA Polymerase	200 μ l	400 μ l
5×LAMP Reaction Mix	0.6 ml	1.2 ml
TS LAMP Green (20×)	100 μ l	200 μ l
6×DNA Loading Buffer	500 μ l	1 ml
RNase-free Water	2×1 ml	4×1 ml

推荐荧光染料法 LAMP 体系 (以 25 μ l 反应体系为例)

反应组分	体积	工作浓度
RNA Template	Variable	≥ 1 copy
FIP/BIP Primers	Variable	1.6 μ M
B3/F3 Primers	Variable	0.4 μ M
Loop F/B Primers	Variable	0.8 μ M
5×LAMP Reaction Mix	5 μ l	1×
TS LAMP Green (20×)	0.45 μ l	0.36×
<i>Bst</i> III DNA Polymerase	2 μ l	-
RNase-free Water	Variable	-
Total Volume	25 μ l	-



推荐荧光探针法 RT-LAMP 体系 (以 25 μ l DARQ_RT-LAMP 反应体系为例)

反应组分	体积	工作浓度
RNA Template	Variable	≥ 1 copy
QPD (Quencher Probe Duplex)-FIP	Variable	QPD-FIP比例为2%, 即0.032 μ M
FIP Primer	Variable	
BIP Primer	Variable	1.6 μ M
B3/F3 Primers	Variable	0.4 μ M
Loop F/B Primers	Variable	0.8 μ M
5 \times LAMP Reaction Mix	5 μ l	1 \times
<i>Bst</i> III DNA Polymerase	2 μ l	-
RNase-free Water	Variable	-
Total Volume	25 μ l	-

推荐反应条件

60 $^{\circ}$ C反应 30~45 分钟, 1 分钟收集一次荧光信号, 具体反应温度根据引物 T_m 值确定。建议在反应结束后设置 85 $^{\circ}$ C 孵育 20 分钟, 使酶失活。

操作建议 & 注意事项

- ① 体系配制过程中避免RNase污染;
- ② *Bst* III DNA Polymerase不具有5'→3'外切酶活性;
- ③ *Bst* III DNA Polymerase不能用于热循环测序或PCR;
- ④ 反应温度范围: 50 $^{\circ}$ C~65 $^{\circ}$ C, 最适反应温度60 $^{\circ}$ C;
- ⑤ 由于*Bst* III酶在室温下也具有活性, 配制体系过程中请保持低温环境(冰上操作);
- ⑥ TS LAMP Green染料用量可适当调整, 但浓度过高会可能导致Ct值延迟;
- ⑦ 稀释引物请使用RNase-free Water或0.1 \times TE, 反应体系中缓冲液浓度较高, 使用1 \times TE稀释的引物可能会影响扩增;
- ⑧ 配制完反应体系后, 最好加入一滴石蜡油进行液封, 可有效避免气溶胶污染导致的假阳性;
- ⑨ 尽量区分实验环境, 在不同的区域进行反应试剂及模板的配制, 若反应结束后需要通过琼脂糖凝胶电泳或其它需要打开LAMP反应管的分析方法, 请在单独的操作环境中进行, 以避免污染;
- ⑩ DARQ (Detection of Amplification by Release of Quenching)-LAMP反应原理及探针设计方法可参考Nathan A. Tanner, Yinhua Zhang, and Thomas C. Evans, Jr., Simultaneous Multiple Target Detection in Real-time Loop-mediated Isothermal Amplification. BioTechniques (2012)。利用本产品进行DARQ-LAMP扩增时, 探针内引物QPD-FIP的最适添加比例为内引物总量(1.6 μ M)的2%, 即0.032 μ M。

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

版本号: V1.0-202204

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

